

日 本 国 特 許 庁

PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1 9 9 6 年 1 0 月 3 1 日

出 願 番 号

Application Number:

平成 8 年特許願第 2 9 0 2 2 7 号

出 願 人

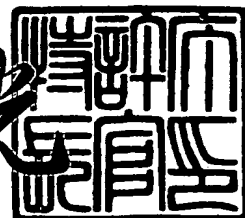
Applicant (s):

株式会社京都第一科学

1 9 9 7 年 9 月 1 2 日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Patent Office

荒井 寿光



出証番号 出証特平 0 9 - 3 0 7 1 9 1 3

【書類名】 特許願

【整理番号】 P-4031

【提出日】 平成 8年10月31日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01N 21/78

【発明の名称】 乾式測定試験素子

【請求項の数】 8

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地株式会社京都
第一科学内

【氏名】 樋口 善彦

【発明者】

【住所又は居所】 京都府京都市南区東九条西明田町 5 7 番地株式会社京都
第一科学内

【氏名】 仲 道男

【特許出願人】

【識別番号】 000141897

【氏名又は名称】 株式会社京都第一科学

【代表者】 土井 茂

【代理人】

【識別番号】 100089244

【弁理士】

【氏名又は名称】 遠山 勉

【選任した代理人】

【識別番号】 100090516

【弁理士】

【氏名又は名称】 松倉 秀実

【選任した代理人】

【識別番号】 100100549

【弁理士】

【氏名又は名称】 川口 嘉之

【連絡先】 03-3669-6571

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 012092

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9504605

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 乾式測定試験素子

【特許請求の範囲】

【請求項1】 色原体を含む試薬と、この試薬を層状に保持する保持体とを含み、液体試料中の測定対象物質と前記試薬との反応により生じる色原体の呈色量を試薬層に入射した光の反射率により求めることで、前記測定対象物質を測定する乾式測定試験素子であって、前記試薬層に、遮光性粒子を含む遮光層が積層されたことを特徴とする乾式測定試験素子。

【請求項2】 前記遮光性粒子が、カーボンブラック、酸化鉄(II)、酸化鉄(III)、鉄(III)、フタロシアニンブルーおよびフタロシアニングリーンから選ばれる請求項1記載の乾式測定試験素子。

【請求項3】 遮光層全体に対する遮光性粒子の含有量が15～90重量%である請求項1記載の乾式測定試験素子。

【請求項4】 前記遮光性粒子が、これを内部に含有するポリマービーズとして、前記遮光層に含まれることを特徴とする請求項1記載の乾式測定試験素子。

【請求項5】 前記ポリマービーズが、アクリル酸、メタクリル酸、マレイン酸、これらのエステル、スチレンおよびアルキルスチレンから選ばれるモノマーを主成分として得られる重合体または共重合体、ポリウレタン、ポリウレア、ポリエチレン、ポリプロピレンおよびポリ塩化ビニルから選ばれる高分子化合物を主成分として含有することを特徴とする請求項4記載の乾式測定試験素子。

【請求項6】 ポリマービーズ全量に対する遮光性粒子の含有量が10～70w/v%であり、遮光層全体に対するポリマービーズの含有量が30～90重量%である請求項4記載の乾式測定試験素子。

【請求項7】 ポリマービーズの平均粒径が1～40 μ mである請求項4記載の乾式測定試験素子。

【請求項8】 試薬層がさらに光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズを含有することを特徴とする請求項1記載の乾式測定試験素子。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、乾式測定試験素子に関し、詳しくは、液体試料中の測定対象物質を呈色反応させたときの呈色量を反射率の測定により求めることで前記測定対象物質を定量する乾式測定試験素子であって迅速且つ高精度な測定が可能な乾式測定試験素子に関する。

【0002】

【従来技術】

液体試料中の特定成分を定量する方法のうちでも、例えば試験紙の様な乾式の測定試験具を用いる方法は、操作が比較的簡便であることから、現在多くの目的のために広く利用されている。この様な乾式測定試験素子は、基本的には、液体試料が浸透、展開できるような保持体中に、前記液体試料に溶解可能であり測定対象物質と反応して分析機器による検出定量が可能な、色、光等の信号を発生するような試薬を保持する試薬層を含む構造となっている。

【0003】

上記乾式測定試験素子のうちでも、測定対象物質と試薬との呈色反応により液体試料中の測定対象物質量を測定する乾式測定試験素子においては、通常、上記測定対象物質と試薬との反応により呈色した色素量を試薬層に入射した光の反射率を測定することで求め、液体試料中の測定対象物質を定量している。この様な呈色反応による乾式測定試験素子では、精度のよい測定を行うために、上記試薬層中に呈色用の試薬の他に反射材を保持させる方法を採用している。例えば、特公平7-21455号公報に記載されている乾式測定試験素子では、測定に用いられる試薬とともに反射材として、光反射性不溶性粒子、例えば、酸化チタン、酸化亜鉛、硫酸バリウム、酸化マグネシウムなどの白色顔料を、試薬層に含有させている。これらの顔料は、試料が全血である場合に、測定誤差の原因となる赤血球が試薬層中に侵入するのを阻止する役割も果たしている場合もある。

【0004】

しかし、試薬層に上記のように反射材を含有させても、試薬層は本質的に液体試料を浸透、拡散し易い構造、具体的には可能な限り薄層で、且つ多孔質な構造

でなければならないが、測定精度を上げるために白色顔料を多量に含有させようとすると、白色顔料の粒径が極微小（0.1～0.3 μm ）であるために、試薬層は液体試料が浸透し難い緻密な層となり、測定時に液体試料の浸透、展開が遅く、試薬と反応して生成する色素の量が測定可能な程度に十分な量となるまでにかかる時間が長くなり作業性の点で問題であった。

【0005】

そこで、試薬層において多孔質な構造がとれる程度に白色顔料の配合量を制限すれば、液体試料が浸透、展開し易くなり測定時間は短縮されるが、この様な試薬層では乾燥時に白色度は高くても、液体試料の浸透時、すなわち測定時には光反射効率は不十分なものとなり、測定光の透過、吸収、散乱等や、試験具外部からの光の入射等の影響を受けやすくなる。これは、多孔質構造の場合、乾燥時には内包している空気の層が光の屈折率を高め乱反射光が多くなるために見た目では白色度が高くなる一方、水分を含浸しているときには内包している水分が光の屈折率を低くするため乱反射するよりも透過する光の量が増え見た目の白色度が低くなることによるものである。

【0006】

特に液体試料が着色成分、例えば、血球等を含有する場合には、その成分が試薬層に浸透している場合であっても、測定光の吸収、散乱等を起こし、また、その成分が試薬層の外側に存在する場合であっても、試薬層を透過した測定光の吸収、散乱等を起こす。全血の場合にはヘマトクリット値が異なる等により、試薬層へ入射し、反射してくる測定光の量はそれぞれ異なる。また、試薬層を透過した測定光は、乾式測定試験素子が支持体等を有する場合には、その支持体により反射光を生じて試料層に入射し、これが試料層での反射光と同時に検出されてしまう。従って、例えば、全血試料ではヘマトクリット値が異なることにより、支持体等よりの反射光量も変動するため、測定値にも影響が現れる。

【0007】

この様な状況から、液体試料中の測定対象物質を呈色反応させたときの呈色量を反射率の測定により求めることで前記測定対象物質を定量する乾式測定試験素子において、迅速かつ高精度な測定を行うために、液体試料が乾式測定試験素子

の試薬層内に浸透して測定可能な色素量が生成するまでの時間が短い構造、つまり測定時間が短く乾燥の影響が少ない構造を維持したままで、反射率測定に際して、液体試料中の固形物による測定光の吸収や散乱の影響および測光部表面の反対側より入射する外部迷光の影響を少なくする方法の開発が望まれていた。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、上記観点からなされたものであり、液体試料中の測定対象物質を呈色反応させたときの呈色量を反射率の測定により求めることで前記測定対象物質を定量する乾式測定試験素子において、迅速で精度の高い測定を行うために、測定時間が短く、かつ反射率測定に際して、液体試料中の固形物による測定光の吸収や散乱の影響および測光部表面の反対側より入射する外部迷光の影響を減少した乾式測定試験素子を提供することを課題とする。

【0009】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、液体試料中の測定対象物質を呈色反応させたときの呈色量を反射率の測定により求めることで前記測定対象物質を定量する乾式測定試験素子において、乾式測定試験素子の構成要素として、前記測定対象物質と反応して呈色する色原体を含む試薬を含有する試薬層と、この試薬層に積層するかたちで遮光性粒子を含有する遮光層とを設けることにより、液体試料の試薬層への迅速な浸透性を維持したままで、試料層への液体試料中の固形物の侵入や外部迷光の入射を阻止できることを見出し本発明を完成させた。

【0010】

すなわち本発明は、色原体を含む試薬と、この試薬を層状に保持する保持体とを含み、液体試料中の測定対象物質と前記試薬との反応により生じる色原体の呈色量を試薬層に入射した光の反射率により求めることで、前記測定対象物質を測定する乾式測定試験素子であって、前記試薬層に、遮光性粒子を含む遮光層が積層されたことを特徴とする乾式測定試験素子である。

【0011】

本発明の乾式測定試験素子において、遮光層は遮光性粒子を含有するが、この様な遮光性粒子として具体的には、カーボンブラック、酸化鉄(II)、酸化鉄(II)鉄(III)、フタロシアニンブルー、フタロシアニングリーン等を挙げることが可能である。

【0012】

本発明の乾式測定試験素子の遮光層における遮光性粒子の含有量は、具体的には、遮光層全体に対して15～90重量%程度であることが好ましい。

また、本発明の乾式測定試験素子において前記遮光層は、遮光性粒子をそのままの状態で含有してもよいが、前記遮光性粒子をポリマービーズの内部に含有させ、このポリマービーズの状態では遮光性粒子を前記遮光層に含有させることが、本発明においては好ましい。

【0013】

本発明の乾式測定試験素子において、上記の様に遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズを遮光層に含ませる場合に、用いるポリマービーズとしては、アクリル酸、メタクリル酸、マレイン酸、これらのエステル、スチレンおよびアルキルスチレンから選ばれるモノマーを主成分として得られる重合体または共重合体やポリウレタン、ポリウレア、ポリエチレン、ポリプロピレンおよびポリ塩化ビニルから選ばれる高分子化合物を主成分として含有するポリマービーズを挙げることができる。

【0014】

上記遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズを遮光層に含む、本発明の乾式測定試験素子において、ポリマービーズが含有する遮光性粒子の含有量は、ポリマービーズ全量に対して10～70w/v%程度が好ましく、この様なポリマービーズを遮光層全体に対して30～90重量%程度の含有量で含有させることが好ましい。さらに、遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズを遮光層に含む、上記本発明の乾式測定試験素子において、用いるポリマービーズの好ましい大きさとしては、平均粒径で1～40 μ m程度を挙げることができる。

【0015】

また、本発明の乾式測定試験素子においては、試薬層がさらに光反射性粒子を

内部に含有するポリマービーズを含有することが好ましい。

【0016】

【発明の実施の形態】

以下、本発明の乾式測定試験素子について詳細に説明する。まず、本発明の乾式測定試験素子の試薬層および遮光層について説明し、次いでこれらを有する本発明の乾式測定試験素子について説明する。

【0017】

(1) 試薬層

本発明の乾式測定試験素子における試薬層は、液体試料中の測定対象物質と反応して呈色する色原体を含む試薬を保持体内に層状に含有する。この色原体は、これを含む試薬と液体試料中の測定対象物質との反応により呈色することで前記測定対象物質を検出することが可能なものであれば特に制限なく用いることができる。尚、ここでいう呈色とは、発色に制限されず、変色も含まれる。また、「測定対象物質と試薬との反応」とは、測定対象物質自体が反応物質である場合の他、触媒として反応に関与することも含む。

【0018】

上記色原体を含む試薬は、測定対象物質の種類により異なり測定対象物質の種類に応じて適宜選択されて用いられる。この選択は、従来の乾式測定試験素子と特に変わるところはない。

【0019】

例えば、本発明の乾式測定試験素子は、血液、尿、唾液等の体液中の測定対象物質量を酸化還元反応を利用した呈色反応により測定する場合に好ましく用いられるが、この際に用いられる試薬として、測定対象物質を酸化する酸化酵素、色原体および必要に応じてペルオキシダーゼを含有する試薬等を好ましく挙げることができる。上記酸化酵素による酸化反応を利用した測定対象物質の定量においては、酵素作用下において測定対象物質を酸化することで生成される過酸化水素が、被酸化型の色原体を直接酸化するか、またはペルオキシダーゼ作用下において色原体を酸化カップリングすることにより、色素が生成され、これを吸光光度法や発色法などによって比色的に測定して前記測定対象物質が定量される。

【0020】

本発明の乾式測定試験素子において具体的には、例えば、測定対象物質がグルコースである場合には、グルコースオキシダーゼと、ペルオキシダーゼと、4-アミノアンチピリンと、MAOS (N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメチルアニリン) またはDAOS (N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリン) が

測定対象物質がコレステロールである場合には、コレステロールオキシダーゼと、ペルオキシダーゼと、4-アミノアンチピリンと、MAOSまたはDAOSが、

測定対象物質が乳酸である場合には、乳酸脱水素酵素と、 NAD^+ と、ジアホラーゼと、テトラゾリウムヴァイオレットが、

測定対象物質がアルカリフォスファターゼである場合には、p-ニトロフェニルフォスフェートが、それぞれ試薬として使用される。

【0021】

本発明の試薬は上記のものに制限されず、測定対象物質に応じて試薬を選択すればよい。呈色反応を酵素反応により行う場合の酵素としては、上記の酵素の他に、ウリカーゼ、グリセロール-3-リン酸オキシダーゼ、コリンオキシダーゼ、アシルCoAオキシダーゼ、ザルコシンオキシダーゼ、各種アミノ酸オキシダーゼ、ビリルビンオキシダーゼ、ラクテートオキシダーゼ、ラクトースオキシダーゼ、ピルビン酸オキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、グリセロールオキシダーゼ等を挙げることができる。

【0022】

また、色原体としては、いわゆるトリンダーの試薬 (アナルズ・オブ・クリニカル・バイオケミストリー (Ann.Clin.Biochem.), 6巻、24頁、1960年) や、o-アニンジン、ベンジジン、o-トリジン、テトラメチルベンジジンなどの被酸化型色原体を挙げることができる。

【0023】

さらに、上記酵素は試薬として用いる他に、測定対象物質とすることもできる

本発明の乾式測定試験素子において、試薬層は上記の様な試薬に加えて光反射性粒子を含有することが好ましく、さらに光反射性粒子をポリマービーズ内部に含有させ、これを試薬層に含有させることがより好ましい。前記ポリマービーズが含有する光反射性粒子としては、ポリマービーズに配合されて本発明の乾式測定試験素子に用いられた際に少量の呈色量についても十分な反射率が与えられる様な光反射性を有する粒子であれば特に制限されないが、具体的には、二酸化チタン、酸化亜鉛、硫酸バリウム、酸化マグネシウムなどの白色顔料、酸化鉄(II) (赤色)、水酸化鉄(III) (赤褐色、黄色)等の有色顔料等を挙げることが可能である。また、これらの光反射性粒子は、測定波長の光を反射する粒子であれば色については特に限定されるものではないが、本発明において好ましくは白色の光反射性粒子が用いられる。

【0024】

この様に本発明の乾式測定試験素子において、試薬層に上記光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズを用いる際には、前記ポリマービーズが内部に含有する光反射粒子の含有量を好ましくは、ポリマービーズ全量に対して10~70 w/v %程度として、この様なポリマービーズを試薬層全体に対して5~80重量%程度の含有量で含有させればよい。この様にして光反射性粒子を試薬層に含有させることで、液体試料中の測定対象物質を試薬と呈色反応させたときの呈色量を吸光光度法、発光法などにより比色的に測定する際に、少量の呈色量にも十分対応した反射率が得られる様になる。

【0025】

また、上記光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズの粒子径は、平均粒径で1~40 μm 程度の範囲にあることが好ましく、より好ましくは平均粒径で2~30 μm 程度であり、さらに好ましくは平均粒径で3~15 μm 程度である。ポリマービーズの平均粒子径が1 μm より小さいと、これを含有する試薬層は液体試料が浸透し難い緻密な層となり、測定時に液体試料の浸透、展開が遅くなって測定に時間がかかることがある。

【0026】

この様な本発明に用いる光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズとしては、ビーズ形態を採ることが可能なポリマーからなり、ポリマービーズ内に上記光反射性粒子を含有することにより、本発明の乾式測定試験素子に用いられた際に少量の呈色量についても十分な反射率が与えられる様なポリマービーズであれば特に制限されないが、本発明において好ましくは、アクリル酸、メタクリル酸、マレイン酸、これらのエステル、スチレン、アルキルスチレン等から選ばれる疎水性ビニルモノマーを主成分として得られる重合体または共重合体や、ポリウレタン、ポリウレア、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル等のビーズ形態を比較的採り易い高分子化合物を主成分としたポリマービーズを挙げることができる。

【0027】

また、上記光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズは、通常の製造方法により、例えば、ポリマービーズ原料に光反射性粒子を適当量配合して、得られるポリマーが適当な粒子径のビーズ形態になるような条件で重合させる等の製造方法により製造することが可能である。また、上記の様な光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズは市販もされているのでこれを本発明に用いることも可能である。光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズの市販品として、具体的には、積水化成工業（株）製のテクポリマー等を挙げることが可能である。

【0028】

本発明の乾式測定試験素子が含む試薬層は、液体試料中の測定対象物質と反応して呈色することで前記測定対象物質を検出することが可能な上記試薬と、好ましくは光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズとが保持体に層状に保持含有されることにより形成されるものである。

【0029】

試薬層における試薬の含有量に関しては、従来の乾式測定試験素子において試薬層に含有される試薬と同程度の含有量とすればよい。つまり、測定時に乾式測定試験素子に吸収される液体試料中の測定対象物質量に対して十分かつ適当量の含有量であればよい。また、試薬層における光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズの含有量は上述の通りである。

【0030】

また、本発明の乾式測定試験素子において試薬層は、上記試薬と、さらに好ましく配合される光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズ以外に、必要に応じてさらに、緩衝剤、親水性高分子、界面活性剤、可塑剤、安定化剤、前処理試薬等を適当量の範囲で含有することが可能である。

【0031】

上記緩衝剤として具体的には、リン酸緩衝剤、酢酸緩衝剤、ホウ酸緩衝剤、トリス緩衝剤、グッド緩衝剤、例えば、TES（N-トリス（ヒドロキシメチル）メチル-2-アミノエタンスルホン酸）、PIPES（ピペリジン-1，4-ビス（2-エタンスルホン酸））等を挙げることができる。また、親水性高分子として具体的には、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、修飾ゼラチン、寒天、アクリルアミドポリマー、アガロース等を挙げることができるが、これら親水性高分子には、乳化エマルジョン系接着剤、例えば、プロピオン酸ビニルと酢酸ビニルの共重合体であるプロピオファン（BASF社製）等、やラテックス粒子を添加することも可能である。さらに、上記界面活性剤として具体的には、トリトンX-100、トリトンX-405、ツイーン-20、ツイーン-80、ブリッジ-35等が挙げられる。また、上記前処理試薬としては、アスコルビン酸オキシダーゼ等を挙げることができる。

【0032】

本発明の乾式測定試験素子が有する上記試薬層において、上記試薬と、好ましく配合される光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズと、必要に応じて添加される上記各種成分とを層状に保持含有させるために用いる保持体としては、通常の乾式測定試験素子において試薬層に用いられる保持体を特に制限することなく挙げることが可能である。この様な保持体として、具体的には、濾紙、木綿紙、ガラス布またはガラス繊維の不織布、石綿紙または石綿布、ナイロン、ポリエステル、ポリスチレン等の合成繊維からなる布または不織布等を挙げることができる。また、試薬層には、上述の様に親水性高分子を含有させることも可能であるが、これらはそれ自体が保持体を構成する材料となり得るので、試薬層が上

記親水性高分子を含有する場合には、さらに上記濾紙等の材料を用いないこともある。また、保持体として上記濾紙等を用いた場合でも、親水性高分子のみで保持体を構成した場合でも、その厚さは、概ね $5\sim 100\mu\text{m}$ であることが好ましい。

【0033】

上記保持体に上記試薬と、好ましく配合される光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズと、さらにそれ以外の各種成分とを層状に保持含有させる方法としては、やはり一般的な方法を用いればよく、例えば、上記含有させたい成分を液体に溶解、分散させることで液状にしてトレーに入れ、これに保持体を漬けて直接含浸させる方法、ポリエチレンテレフタレート（以下「PET」と省略する）等の剥離性のよい樹脂フィルム上に一定の厚さで上記各種成分を含む液体を塗工し、その上へ保持体をのせて吸い込ませ乾燥後、樹脂フィルムと分離する方法、上記各種成分を含む液体をスプレー等により保持体に噴霧する方法、バーコーター等により保持体に塗工する方法等が挙げられる。含浸後の乾燥は、通常の方法で行われるが、本発明の乾式測定試験素子の試薬層においては、乾燥温度を $20\sim 60^{\circ}\text{C}$ とすることが好ましい。

【0034】

また、上記親水性高分子のみで保持体を形成させる場合には、例えば、上記試薬と、好ましく配合される光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズと、親水性高分子と、さらにこれら以外の各種任意成分とを水等の液体に溶解、分散させることで液状とし、これをPET等の樹脂フィルム上に適当な濡れ厚さで塗工して乾燥後、樹脂フィルムと分離する方法が取られる。なお、試薬層を樹脂フィルム上に作製する場合には、樹脂フィルムは必要に応じてそのまま残すことも可能である。

【0035】

上記の様にして、試薬と好ましく配合される光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズとを1層に含有する試薬層を得ることができるが、必要に応じて、試薬層を試薬含有層と光反射性粒子含有ポリマービーズ含有層の2層構造とすることも可能である。この場合の各層の作製は上記1層の場合の作製方法に準じて

行うことが可能であり、また積層についても通常の方法に従って行うことが可能である。

【0036】

(2) 遮光層

本発明の乾式測定試験素子は、上記試薬層に、遮光性粒子、好ましくは遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズを含む遮光層が積層された構造を有する。

【0037】

上記本発明の遮光層に用いられる遮光性粒子としては、遮光層に含有されて本発明の乾式測定試験素子に用いられた際に、試料層を透過しようとする測定光や測光部表面の反対側より入射する外部迷光を遮る様な遮光性を有する粒子であれば特に制限されないが、本発明において好ましくは、カーボンプラック、酸化鉄(II)、酸化鉄(III)、フタロシアニンプール、フタロシアニングリーン等の有色顔料を挙げることができる。

【0038】

本発明の乾式測定試験素子の遮光層における上記遮光性粒子の含有量は、具体的には、遮光層全体に対して15～90重量%程度であることが好ましい。遮光性粒子の含有量を前記範囲とすることで、試料層を透過しようとする測定光や測光部表面の反対側より入射する外部迷光を遮ることが可能となる。

【0039】

また、本発明の乾式測定試験素子において上記遮光性粒子は、好ましくはこれを内部に含有するポリマービーズの状態の上記遮光層に含有されるが、この様なポリマービーズとして、上記試薬層に好ましく含有される光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズに用いられるのと同様の高分子化合物を主成分としたポリマービーズを挙げることができる。

【0040】

本発明の乾式測定試験素子において、遮光層に遮光性粒子を含有させる際には、この様なポリマービーズに上記遮光性粒子を含有させて用いることが好ましいが、前記ポリマービーズが含有する遮光性粒子の好ましい含有量として、ポリマービーズ全量に対して10～70w/v%程度の含有量を挙げることができる。

さらに、本発明の乾式測定試験素子においては、この様なポリマービーズを遮光層全体に対して30～90重量%程度の含有量で含有させることで、上記同様に試料層を透過しようとする測定光や測光部表面の反対側より入射する外部迷光を遮ることが可能となる。

【0041】

また、上記本発明に用いるポリマービーズの粒子径は、平均粒径で1～40 μm 程度の範囲にあることが好ましく、より好ましくは平均粒径で2～30 μm 程度であり、さらに好ましくは平均粒径で3～15 μm 程度である。ここで、本発明の乾式測定試験素子において遮光層は試薬層に積層される層であり、測定に際して液体試料は通常遮光層側から供給される。このため、ポリマービーズの平均粒子径が1 μm より小さいと、これを含有する遮光層は液体試料が浸透し難い緻密な層となり、測定時に液体試料の浸透、展開が遅くなって測定に時間がかかることがある。また、ポリマービーズの平均粒子径が40 μm より大きいと、呈色量測定を妨害する血球のような着色成分が遮光層を通過しての試薬層へ浸透する可能性があり好ましくない。この様に遮光層に遮光性粒子を含有させる際に、遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズを用いることの利点は、遮光層の緻密性あるいは空隙性のある程度自由に調整できることにある。

【0042】

上記本発明に用いる遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズは、上記試薬層に好ましく用いられる光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズと同様にして、通常の製造方法により、例えば、ポリマービーズ原料に遮光性粒子を適当量配合して、得られるポリマーが適当な粒子径のビーズ形態になるような条件で重合させる等の製造方法により製造することが可能である。また、上記の様な遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズは市販もされているのでこれを本発明に用いることも可能である。遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズの市販品として、具体的には、積水化成品工業（株）製のテクポリマー等を挙げることが可能である。

【0043】

また、本発明の乾式測定試験素子において遮光層は、上記遮光性粒子、好まし

くはこれを内部に含有するポリマービーズ以外に、必要に応じてさらに、緩衝剤、親水性高分子、界面活性剤、可塑剤、安定化剤、前処理試薬等を適当量の範囲で含有することが可能である。これら成分に関しては、上記試薬層で説明したのと同様のものを挙げる事が可能である。

【0044】

本発明の乾式測定試験素子において上記遮光層を作製するには、上記遮光性粒子あるいは遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズのみで遮光層を形成させることも可能であるが、前記遮光性粒子あるいは遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズを保持体に層状に保持させるようにして形成させることが好ましい。具体的には、通常の乾式測定試験素子において試薬層用等に用いられる保持体に、上記適量の遮光性粒子あるいは遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズとさらにそれ以外の成分とを含有させるように、通常の要領で保持体に層状に保持させる等の方法を取ればよい。遮光層を作製する際に、好ましく用いられる上記保持体については、上記試薬層で説明した保持体と同様のものを用いることが可能であり、この様な保持体に上記遮光性粒子あるいは遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズと、さらにそれ以外の各種成分とを層状に保持含有させる方法についても上記試薬層と同様の方法を採用することが可能である。なお、遮光層の好ましい厚さは5～100 μ mである。

【0045】

本発明の乾式測定試験素子において、この様にして得られる遮光層は上記試薬層に積層されて用いられるが、この積層についても通常の方法に従って行うことが可能である。例えば、PET等の樹脂フィルム上、場合によっては多孔性フィルム上に、塗布乾燥された試薬層の上に、遮光層を単独で作製するのと同様な方法で作製する、例えば、上記遮光性粒子あるいは遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズと、親水性高分子と、各種任意成分とを水等の液体に溶解、分散させて液状とし、これを塗布あるいはスプレーした後、乾燥させることで試薬層上に遮光層を作製する等により積層することが可能である。

【0046】

また、PET等の樹脂フィルム上、場合によっては多孔性フィルム上に、上記

試薬層の作製に用いたのと同様の試薬層を形成させるための液状物を載せ、その上に上記遮光層を形成させるための液状物を載せて、これらをバーコーター等を用いて同時に上記フィルム上に塗布した後、乾燥させることによって、試薬層上に遮光層を積層した構造にすることができる。

【0047】

積層後、PET等の樹脂フィルムあるいは多孔性フィルムは、必要に応じて取り外されるか、またはそのままの状態で本発明の乾式測定試験素子に用いられる。

【0048】

また、本発明の乾式測定試験素子において試薬層は、試薬含有層、光反射性粒子含有ポリマービーズ含有層のように2層とすることも可能であるが、試薬層がこの様に2層になる場合には、試薬層と遮光層との積層の順は、試薬含有層、光反射性粒子含有ポリマービーズ含有層、遮光層の順となる。

【0049】

(3) 乾式測定試験素子

本発明の乾式測定試験素子は、上記の様に、液体試料中の測定対象物質と反応して呈色することで前記測定対象物質を検出することが可能な上記試薬と本発明において好ましく配合される光反射性粒子を内部に含有するポリマービーズおよび各種任意成分が保持体に層状に保持されることにより形成された試薬層を含むものであって、この試薬層に、遮光性粒子、好ましくは遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズを含む上記遮光層が積層されたことを特徴とする。

【0050】

本発明の乾式測定試験素子においては、試薬層に積層された遮光層に液体試料が点着され、これが遮光層、試薬層に浸透、展開する間に、試薬層に含有する試薬と液体試料中の測定対象物質が反応して色素を生成する。これにより生成した色素量を吸光光度法、発光法などにより比色的に定量する際に、遮光層が試料層を透過しようとする測定光や測光部表面の反対側より入射する外部迷光を遮る様に作用して精度のよい測定を行うことが可能となる。さらに遮光層は、試薬層への血球等の着色成分の浸入を防ぎ、これら成分が試薬層中で測定光を吸収、散乱

させることを防止している。

【0051】

本発明の乾式測定試験素子は、上記遮光層が積層された試薬層の他に必要に応じて、従来の乾式測定試験素子が有する部材、例えば、試薬層を支持する基材、液体試料を保持する試料保持層、液体試料保持のための空間を設けるための支持体等を有することが可能である。

【0052】

上記試薬層を支持するために設けられる基材としては、上記試薬層の作製で述べたような樹脂フィルム、好ましくは光透過性であって液体不透過性の樹脂フィルム、例えば、PET、ポリプロピレン等を挙げることができる。基材を光透過性を有する液体不透過性樹脂フィルムとして、試薬層の遮光層が積層された側の反対側に積層して用いれば、基材側から光を照射して呈色量を測定するのに有利である。

【0053】

さらに、液体試料中の測定対象物質と試薬との呈色反応が酸素等の気体の透過により促進される呈色反応の場合には、上記基材として光透過性かつ液体不透過性であってさらに気体透過性を有する多孔性フィルムを用いることが好ましい。基材のフィルムを多孔性とすることにより呈色反応が促進され反応時間の短縮を図ることができるためである。この様な光透過性かつ液体不透過性であってさらに気体透過性を有する多孔性フィルムについては、特公平7-21455号公報に詳しく記載されているのでこれを参照することができる。また、この様な多孔性フィルムは市販されており、これらを本発明の乾式測定試験素子に用いることが可能である。上記特性を有する市販の多孔性フィルムとしては、例えば、ニュークリポア（ニュークリポア社製）、セルガード（ヘキストセラニーズ社製）、サイクロポア（ワットマン社製）等を挙げることができる。

【0054】

上記液体試料を保持するための試料保持層は、本発明の乾式測定試験素子においては、試薬層、遮光層、試料保持層の順で積層するか、あるいは、試薬層、試料保持層、遮光層の順に積層することが可能であり、この様に用いられる試料保

持層としては、従来の乾式測定試験素子が有する試料保持層（一般には「拡散層」、「展開層」などと呼ばれることもある）と同様の構成のものを挙げることができる。

【0055】

また、本発明の乾式測定試験素子においては、上記試料保持層の替わりに液体試料保持のための空間を設けることが可能であり、そのための支持体等を有することが可能であるが、前記支持体を有する乾式測定試験素子として例えば、図1に断面図を示す様な、上記の様に基材が積層されていてもよい、遮光層が積層された試薬層、および液体試料保持のための空間を設けるための支持体と、で構成された乾式測定試験素子を挙げることができる。

【0056】

図1において、支持体1は内部に液体試料を保持するための毛細管室2を有し、前記毛細管室と支持体外部とを連絡する3つの孔、すなわち呈色量測定のための光照射孔3と液体試料注入孔4と空気孔5とを有する。遮光層7が積層された試薬層6は、試薬層が前記光照射孔3を覆い、毛細管室に遮光層7が面するかたちで、支持体の毛細管室内に設置されている。また、試薬層に基材が積層されている場合には、基材側から測定光が照射されるように設置する。この様な乾式測定試験素子において支持体は、液体不透過性で液体試料への溶出がない樹脂等で構成することができる。

【0057】

本発明の乾式測定試験素子は、各種試薬と反応して色素を生成させることが可能な物質を含有する液体試料中の前記物質を定量する場合の何れにも適用することが可能であるが、血液、尿、唾液等の体液中の測定対象物質量を酸化還元反応を利用した呈色反応により測定する場合、例えば、血液中のグルコース量を上記で詳述したような試薬を用いて測定する場合などに好ましく適用される。

【0058】

【実施例】

以下に本発明の実施例を説明する。

【0059】

＜乾式測定試験素子の作製＞

表1に組成を示す試薬層用の各成分を混合して試薬層用の塗工液を作製した。ガラス板にセルガード（ヘキストセラニーズ社製）をシワのないように貼り付け、このセルガード上にナイフコーターを用いて上記塗工液を塗布厚 $100\mu\text{m}$ で塗布し、乾燥温度 25°C 、乾燥湿度 15% で30分間乾燥させて試薬層を形成させた。さらに表1に組成を示す遮光層用の各成分を混合して遮光層用の塗工液を作製し、この塗工液を前記試薬層の上にナイフコーターを用いて塗布厚 $40\mu\text{m}$ で塗布し、乾燥温度 25°C 、乾燥湿度 15% で30分間乾燥させて遮光層を形成させた。その後、遮光層が積層された試薬層（以下「遮光層／試薬層」と表記することがある）をセルガードごとガラス板よりはがして、 $7\text{mm}\times 7\text{mm}$ の大きさに切断した。

【0060】

上記で得られた 7mm 角のセルガード付き遮光層／試薬層を、 $4\text{mm}\phi$ の穴のあいた $30\text{mm}\times 7\text{mm}$ の大きさのPETフィルム上に穴を覆うかたちでセルガード側をPETフィルム側にして熱圧着した。遮光層／試薬層の遮光層を上にしてこれを覆いながらPETフィルムとの間に毛細管室を形成する様に、PETフィルム上に熱可塑性樹脂を用いてカバーを固定して乾式測定試験素子とした。なお、このカバーは液体試料供給孔と空気孔を有していた（図1参照）。

【0061】

また、比較のために上記実施例において遮光層／試薬層の替わりに、遮光層を積層しない試薬層を用いた以外は、上記実施例と全く同様にして乾式測定試験素子を作製した。

【0062】

【表 1】

表 1

成 分	配 合 量	
	試薬層	遮光層
ホウ酸緩衝液 (150mM、pH=7.0)	29.0 g	—
ヒドロキシプロピルセルロース	1.3 g	1.3 g
テクポリマー-MBX-5/White	5.0 g	—
テクポリマー-MBX-5/Black	—	5.0 g
プロピオファン (BASF社製)	1.3 g	1.3 g
TES緩衝液 (300mM、pH=7.0)	5.0 g	2.5 g
ツイーン-20 (50wt%)	3.2 g	3.2 g
グルコースオキシダーゼ	138 ku	—
ペルオキシダーゼ	103 ku	—
4-アミノアンチピリン	0.2 g	—
MAOS (同仁製)	0.5 g	—
蒸留水	2.4 g	38.6 g

【0063】

なお、上記表1中、テクポリマー-MBX-5/White (積水化成品工業 (株) 製) は、架橋ポリメタクリル酸メチルに50w/v%の割合で二酸化チタンを含有した平均粒子径5 μ mの真球状のポリマービーズであり、テクポリマー-MBX-5/Black (積水化成品工業 (株) 製) は、架橋ポリメタクリル酸メチルに50w/v%の割合でカーボンブラックを含有した平均粒子径5 μ mの真球状のポリマービーズである。

【0064】

<本発明の乾式測定試験素子の評価>

上記実施例および比較例で得られた乾式測定試験素子について、全血試料のヘマトクリット値の違いが測定値の与える影響について試験を行った。

【0065】

解糖阻止剤（NaF）添加全血（グルコース濃度99mg/dl）を、ヘマトクリット値が各種値（0%、15%、31%、46%、57%、71%）になるように調整して6種類の検体を作製した。各検体の10 μ lを上記実施例で得られた乾式測定試験素子の試薬層に点着し、5秒後に640nmの光を測定光照射孔を通してセルガード側から照射し、得られる反射率を反射率計（色差計）にて測定した。比較例で得られた乾式測定試験素子についても同様の測定を行った。実施例および比較例で得られた乾式測定試験素子を用いて測定された上記検体についての反射率の測定結果を図2に示す。なお、図2において縦軸は反射率（%）を横軸は検体のヘマトクリット値（%）を示す。

これらの結果から明かな様に、実施例で得られた乾式測定試験素子においては、ヘマトクリット値が変化しても、反射率は変化しない。つまり、血球成分の量の多少によらず、全血中の測定対象物質が正確に定量できることがわかった。

【0066】

【発明の効果】

本発明の乾式測定試験素子を、液体試料中の測定対象物質を呈色反応させたときの呈色量を反射率の測定により求めることで前記測定対象物質を定量する乾式測定試験素子として用いれば、測定時間が短く、かつ反射率測定に際して、液体試料中の固形物による測定光の吸収や散乱の影響および測光部表面の反対側より入射する外部迷光の影響を減少した、迅速で高精度な測定を行うことが可能となる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 本発明の乾式測定試験素子の一例の断面図を示す図である。

【図2】 実施例および比較例で得られた乾式測定試験素子を用いて測定したヘマトクリット値の異なる各種検体の640nmでの反射率を示す図である。

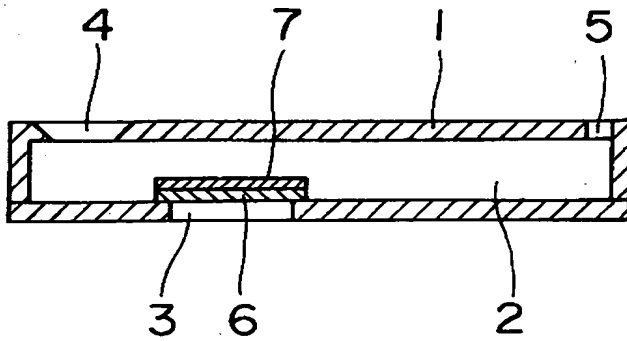
【符号の説明】

1. 支持体

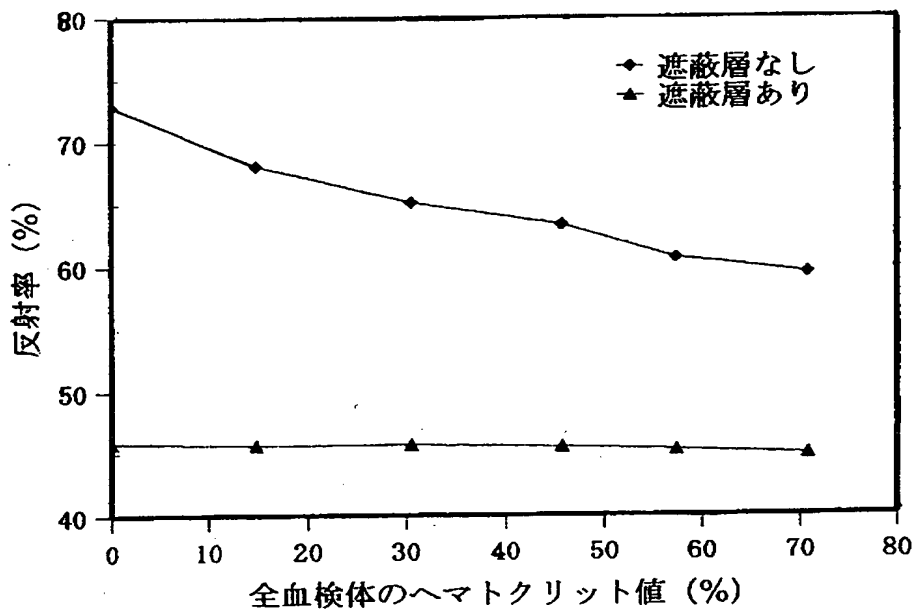
2. 毛細管室
3. 測定光照射孔
4. 液体試料注入孔
5. 空気孔
6. 試薬層
7. 遮光層

【書類名】 図面

【図1】



【図2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 液体試料中の測定対象物質を呈色反応させたときの呈色量を反射率の測定により求めることで前記測定対象物質を定量する乾式測定試験素子において、迅速で精度の高い測定を行うために、測定時間が短く、かつ反射率測定に際して、液体試料中の固形物による測定光の吸収や散乱の影響および測光部表面の反対側より入射する外部迷光の影響を減少した乾式測定試験素子を提供する。

【解決手段】 色原体を含む試薬と、この試薬を層状に保持する保持体とを含み、液体試料中の測定対象物質と前記試薬との反応により生じる色原体の呈色量を試薬層に入射した光の反射率により求めることで、前記測定対象物質を測定する乾式測定試験素子の試薬層に、遮光性粒子、好ましくは遮光性粒子を内部に含有するポリマービーズを含む遮光層を積層する。

【選択図】 図2

【書類名】

職権訂正データ

【訂正書類】

特許願

認定情報・付加情報>

【特許出願人】

【識別番号】

000141897

【住所又は居所】

京都府京都市南区東九条西明田町57番地

【氏名又は名称】

株式会社京都第一科学

【代理人】

申請人

【識別番号】

100089244

【住所又は居所】

東京都中央区東日本橋3丁目4番10号 ヨコヤマ
ビル6階 秀英国際特許事務所

【氏名又は名称】

遠山 勉

【選任した代理人】

【識別番号】

100090516

【住所又は居所】

東京都中央区東日本橋3丁目4番10号 ヨコヤマ
ビル6階 秀英国際特許事務所

【氏名又は名称】

松倉 秀実

【選任した代理人】

【識別番号】

100100549

【住所又は居所】

東京都中央区東日本橋3丁目4番10号 ヨコヤマ
ビル6階 秀英国際特許事務所

【氏名又は名称】

川口 嘉之

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[000141897]

1. 変更年月日 1990年 8月11日

[変更理由] 新規登録

住 所 京都府京都市南区東九条西明田町57番地
氏 名 株式会社京都第一科学